

IMMUNOASSAY USING CRYSTAL VIBRATOR

Publication number: JP7225233
Publication date: 1995-08-22
Inventor: UMEMOTO MASAO; UJIHIRA YUSUKE
Applicant: KYOWA MEDEX CO LTD
Classification:
- international: **G01N33/543; G01N33/543; (IPC1-7): G01N33/543**
- European:
Application number: JP19940018722 19940215
Priority number(s): JP19940018722 19940215

Report a data error here

Abstract of JP7225233

PURPOSE:To provide an immunoassay method with high reliability in which antigen or antibody can be reutilized and a crystal vibrator is used for. **CONSTITUTION:**In an immunoassay method for determining target components in a specimen quantitatively by using substances which are specifically combined with the target component joining with a solid phase, the amount of magnetic molecular is determined quantitatively by measuring the change in oscillation frequency of a crystal vibrator, while magnetic particles are used as labelled substance.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

Best Available Copy

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-225233

(43) 公開日 平成7年(1995)8月22日

(51) Int.Cl.⁹

G 0 1 N 33/543

識別記号

5 9 3

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数1 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平6-18722

(22) 出願日 平成6年(1994)2月15日

(71) 出願人 000162478

協和メデックス株式会社

東京都中央区入船二丁目1番1号

(72) 発明者 梅本 雅夫

埼玉県北葛飾郡杉戸町清地5丁目20番16号

(72) 発明者 氏平 祐輔

神奈川県横浜市磯子区岡村1丁目11番5号

(54) 【発明の名称】 水晶発振子を用いる免疫測定法

(57) 【要約】

【目的】 高い検出感度を持ち、抗原や抗体が再利用できる水晶発振子を用いた免疫測定法を提供する。

【構成】 試料中の目的成分を、固相と結合した目的成分に特異的に結合する物質を用いて定量する免疫測定法において、標識物質として磁性粒子を用い、磁性粒子量を水晶発振子の発振周波数の変化を測定することにより定量することを特徴とする方法。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 試料中の目的成分を、固相と結合した目的成分と特異的に結合する物質を用いて定量する免疫測定法において、標識物質として磁性粒子を用い、磁性粒子量を水晶発振子の発振周波数の変化を測定することにより定量することを特徴とする方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、臨床検査等で有用な生体試料の免疫測定法の改良に関する。

【0002】

【従来の技術】 水晶発振器を用いて抗原又は抗体を測定する方法としては、水晶発振子の電極面上に、抗原又は抗体に対して、それぞれ特異的に結合する物質を吸着もしくは結合させておき、目的とする抗体又は抗原をその特異的結合体により捕捉し、生じる水晶発振子の発振周波数の変化を測定して目的成分量を求める方法が報告されている（アナリティカルケミストリー 1987 年、59 巻、2760 頁、特開昭 64-35269 号公報）。また水晶発振子の表面に結合させる方法とは異なり、抗原抗体反応の結果生成する沈澱により水晶発振子の発振周波数が変化する現象を利用して、目的とする抗原又は抗体の濃度を測定する方法（ジャーナルオブ アメリカン ケミカル ソサエティー、110 巻、8623 頁、1988 年；特開平 3-77061 号公報）も知られている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 水晶発振子の発振周波数の変化を測定する免疫測定法は微量の抗原または抗体を測定する場合、検出感度が十分ではなく、さらに高価な抗原または抗体を再利用できないといった欠点を有するため、広く普及するには至っていない。

【0004】 本発明により、試料中の抗原または抗体を高感度に検出でき、かつ測定に使用した抗原または抗体を再利用できる水晶発振子を用いた免疫測定法が提供される。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明は、試料中の目的成分を、固相と結合した目的成分に特異的に結合する物質を用いて定量する免疫測定法において、標識物質として磁性粒子を用い、磁性粒子量を水晶発振子の発振周波数の変化を測定することにより定量することを特徴とする方法に関する。

【0006】 本発明において、試料中の目的成分を固相と結合した目的成分に特異的に結合する物質を用いて定量する免疫測定法としては、固相と結合した目的成分に特異的に結合する物質と目的成分とを反応させ結合させた後、該結合物と、標識物質の結合した目的成分に特異的に結合する第 2 物質とを反応させ、間接的に固相に結合した標識物質量を測定する免疫測定法（サンドイッチ

法）、固相と結合した目的成分に特異的に結合する物質に、目的成分または標識物質の結合した目的成分とを競合させて結合させ、間接的に固相と結合した標識物質量を測定する免疫測定法（競合法）があげられる。

【0007】 本発明においては、標識物質として、磁性粒子を目的成分に特異的に結合する第 2 物質または目的物質に結合させた磁性体を用い、免疫反応後間接的に固相と結合した磁性粒子量を水晶発振子を用いて測定することを特徴とする。

10 【0008】 本発明をサンドイッチ法により行う場合は、磁性粒子を目的成分に特異的に結合する第 2 物質に結合させた磁性体を用い、競合法により行う場合は、磁性粒子を目的成分に結合させた磁性体を用いる。

【0009】 本発明において試料はどのようなものでもよいが、血液、尿等の体液を用いることができる。

【0010】 目的成分とは、抗原または抗体を表す。抗原または抗体（被検体）としては、がん胎児性抗原（CEA）、免疫グロブリン（IgG、IgA、IgM、IgD、IgE）、補体（C3、C4、C5、C1q）、C 反応性蛋白質（CRP）、 α_1 -アンチトリプシン、 α_1 -ミクログロブリン、 β_2 -ミクログロブリン、ハプトグロブリン、トランスフェリン、セルロプラスミン、フェリチン、アルブミン、ヘモグロビン A₁、ヘモグロビン A_{1c}、ミオグロビン、ミオシン、デューバン-2、 α -フェトプロテイン（AFP）、組織ポリペプチド抗原（TPA）、アポリポ蛋白 A₁、アポリポ蛋白 E、リウマチ因子、抗ストレプトリジン O（ASO）、フィブリン分解産物（FDP）、フィブリン分解産物 D 分画（FDP-D）、フィブリン分解産物 D-D 分画（FDP-D Dimer）、フィブリン分解産物 E 分画（FDP-E）、アンチトロンビン-III（AT-III）等の蛋白質、アミラーゼ、前立腺由来酸性ホスファターゼ（PAP）、神経特異エノラーゼ（NSE）、フィブリノーゲン、エラスターゼ、プラスミノーゲン、クレアチンキナーゼ心筋型（CK-MB）等の酵素、インシュリン、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、3,5,3'-トリヨードサイロニン（T₃）、サイロキシニン（T₄）、副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）、生長ホルモン（GH）、黄体化ホルモン（LH）等のホルモン、B 型肝炎ウイルス関連抗体、B 型肝炎ウイルス関連抗原、C 型肝炎ウイルス抗体、HTLV（成人 T 細胞白血病ウイルス）抗体、HIV（エイズウイルス）抗体、クラミジア抗体、梅毒の抗体、トキソプラズマ抗体等各種感染症の原因ウイルスに対する抗体等があげられる。

【0011】 目的成分に特異的に結合する物質としては、目的成分に特異的に結合する物質であればどのようなものでもよく、例えば目的成分が抗原である場合は該抗原に対する抗体、目的成分が抗体である場合は該抗体に対する抗原、目的成分が IgG の場合はプロテイン A 等があげられる。

3

【0012】抗原に対する抗体とは、試料中の抗原に対するポリクローナル抗体、試料中の抗原に対するモノクローナル抗体等通常抗原に対して反応し得る抗体があげられる〔「単クローナル抗体実験マニュアル」、富山朔二ら編、講談社サイエンティフィック刊、1987年：新化学実験講座 第12巻、「分子免疫学 III 抗原、抗体、補体」、日本生化学会編、東京化学同人社刊、1992年〕。該抗体は複数の抗体からなるものでもよく、抗体を限定分解したもの、蛋白修飾したものでもよい。

【0013】抗体に対する抗原とは、天然の抗原の抗体結合部位でもよく、遺伝子操作等により人工的に作成されたものでもよい。例えば、被測定抗体が各種感染症の原因ウイルスに対する抗体である場合、被測定抗体に対する抗原は上述の感染症のウイルスのマーカー蛋白質等を用いることができる。該抗原は複数の抗原分子からなるものでもよく、抗原分子を限定分解したもの、蛋白修飾したものでもよい。

【0014】固相としては水晶発振子または固形物を用いることができる。固相として固形物を用いる場合は、例えばプラスチック、シリカ、セラミックス、ガラス、金属、メンブラン、グラファイト等の固形物に目的成分と特異的に結合する物質とを、直接結合させるかまたは必要により担体を介して結合させておけばよい。

【0015】固相と目的成分に特異的に結合する物質とを結合させるために用いる担体としては、ポリアクリルアミドゲル、セファロース、ポリスチレン、シリコーンゴム、ポリビニールアルコール、ナイロン（6, 6-ナイロン、6-ナイロン）、ポリアクリルアミド、ポリカーボネート、ポリエステル、ポリウレタン、ろ紙等があげられ、これらの担体をガラス、シリカ、セラミック、金属、グラファイト等の固体と結合させて用いることができる。また、グルタルアルデヒド処理ポリアクリルアミドゲル（Bio-Gel P）、臭化シアン活性化セファロース等の市販品を担体として用いることができる。担体と固相との結合方法は常法により行えばよい。

【0016】担体または固相と目的成分に特異的に結合する物質との結合方法は、目的成分に特異的に結合する物質はいずれもタンパク質であるため、以下に説明する方法で結合させる（タンパク質ハイブリッド第3巻、共立出版、1990年、続生化学実験講座5、免疫生化学研究法、東京化学同人、1986年）。

【0017】担体と目的成分に特異的に結合する物質との結合は、担体結合法、架橋法（クロロギ酸エチル、グルタルアルデヒドなど）、包括法などにより行えばよい。

【0018】固相または担体と目的成分に特異的に結合する物質との結合には、固相への結合が強固な共有結合方式が一般によく用いられる。とりわけシッフ塩基結合法、ジアゾ化法、臭化シアン活性化法、アルキル化法な

4

どはヒンジが抗体活性を損なわず、かつ重合体の生成がないので適した結合法である。

【0019】固相としてガラス、シリカ、セラミック、金属、グラファイト等を用いる場合は、表面の水酸基と、シラン試薬（例えばγ-アミノプロピルトリエトキシシランなど）により、アルキルアミンを形成し、グルタルアルデヒドで架橋してタンパクと結合させることができる。また固相が金属の場合は、表面の酸化被膜を臭化シアン処理し、タンパク質と結合させることもできる。このような化学的な結合法他に、目的成分に特異的に結合する物質としてプロテインA等を用いるときは蒸着した金表面に強く吸着するプロテインAの性質、アルブミン、グロブリン等を用いるときは、定電位電解により電析した白金黒に強く吸着するという該分子の物理的な性質を利用して結合させてもよい。

【0020】また、ジャーナル オブ マイクロスコピー、1981年、123巻、215頁に記載の方法に従って金電極表面にレクチン、抗体、ホルモンなどを結合させてもよい。

【0021】水晶発振子を固相として用いる場合は、水晶発振子は金属電極を有するので、前記の金属の固相と目的物質に特異的に結合する物質との結合法により結合することができる。該方法においては金属表面を活性化させるため水晶発振子を0.5～2規定の水酸化ナトリウム液等の塩基溶液に10～60分間漬けて水洗し、次に、0.5～2規定の塩酸等の酸に数分浸漬する。さらに1～100μlの塩酸を電極中央にのせて1～10分後に水洗を行う。エタノールで洗浄した後、100～300℃で10～40分かけて加熱する。温度を下げた後、目的成分に特異的に結合する物質を容量の半分程度含む濃度20～200mM、pH3～10のリン酸緩衝液を入れ、次に、2～10%の塩化ナトリウム等の塩を含むpH3.5～5、濃度50～200mMの酢酸緩衝液を入れ、目的タンパク質の等電点にpHを調整した後、数時間放置し担体と結合させればよい。

【0022】本発明において、目的物質に特異的に結合する第2物質としては抗IgG、プロテインA、ビオチン-アビジン結合等、通常サンドイッチ法で用いる第2抗体があげられる。

【0023】本発明において、標識物質として用いる磁性粒子としてはフェライトやマグネタイト（磁鉄鉱、Fe₃O₄）の粒子が一般に用いられる。マグネタイトは第一鉄イオンと第二鉄イオンとの反応、あるいは第一鉄イオンの酸化反応によって得ることができる。

【0024】磁性粒子に、目的物質に特異的に結合する第2物質または目的物質等のタンパク質を結合させ、標識された磁性体を得る方法には、直接法と間接法がある。直接法はタンパク質を磁性粒子に直接吸着させるか、あるいは磁性粒子に吸着したタンパク質同志をグルタルアルデヒドなどで架橋するものであり、間接法は磁

性粒子とタンパク質とを有機高分子（デキストラン、アルブミン、デンプン、ポリアクリルアミド、ポリエチレングリコールなど）を介して行う方法である。

【0025】該間接法は磁性粒子に有機高分子を結合させた後、さらにタンパク質と結合させてもよいし、磁性粒子に有機高分子とタンパク質との結合体を結合させてもよい。なお、市販のIgG、IgM、IgA、IgH等の抗体を用いた磁性体（アドバンス・マグネティック社）を用いてもよい。

【0026】本発明において磁性粒子量を水晶発振子により定量する方法としては、水晶発振子の発振周波数の変化から質量変化を検出する水晶マイクロバランス法、水晶ラム波デバイス法、表面弾性波法（Surface Acoustic Wave Sensors）などがある。水晶マイクロバランス法においては、水晶板（AT板、BT板など）の両面に金、銀、アルミニウム、銅などの電極をつけたものを水晶発振子として用いる。水晶発振子にアルキルアミンを結合させるためにパラジウム（Pd）などの貴金属を電着する場合もある。

【0027】本発明の測定法を水性媒体中で行う場合は、水性媒体として水また緩衝液を用いる。水また緩衝液としては、蒸留水、イオン交換水、生理食塩水またはpH4～10で濃度範囲が5～200mM、好ましくは10～100mMの緩衝液があげられる。緩衝液としてはリン酸緩衝液、トリス塩酸緩衝液、グリシン緩衝液、ホウ酸緩衝液、酢酸緩衝液、グッドの緩衝液等があげられる。なお、水または緩衝液は必要により、塩化ナトリウム等の塩、牛血清アルブミン等の安定化剤、アジ化ナトリウム等の防腐剤、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート（Tween 20）等の界面活性剤を含有していてもよい。

【0028】以下に本発明の測定方法を説明する。pH6～8、濃度10～100mMの緩衝液中、0.1～10mg/mlの固相と結合した目的成分と特異的に結合する物質に、（1）サンドイッチ法の場合は、試料を加え10～45℃で、15～180分間反応させた後、必要により緩衝液で洗浄し、さらに0.1～10mg/mlの磁性体を加え、10～45℃で、30～180分間反応させる。また（2）競合法の場合は、試料と磁性体とを加え10～45℃で、10～180分間反応させる。

【0029】固相中に補足された磁性体を、必要によりpH6～8、濃度10～100mMの洗浄用緩衝液で洗浄した後、pH2～3、濃度10～200mMの磁性粒子遊離液に漬け磁性粒子を遊離させる。遊離させた磁性粒子と水晶発振子を共存させることにより水晶発振子の発振周波数が変化するのでこれを水晶発振器で測定する。

【0030】また水晶発振子を固相として用いる場合は、磁性体が固相に間接的に結合後、緩衝液で洗浄した後、結台前と洗浄後の間における水晶発振子の発振周波

数の変化を測定すればよい。

【0031】洗浄用緩衝液としては1～100mMの塩化ナトリウム、塩化カリウム等を含むリン酸緩衝液、生理食塩水含有リン酸緩衝液があげられ、磁性粒子遊離液としてはグリシン塩酸緩衝液等があげられる。

【0032】なお該測定方法が終了後、磁性体と結合した目的成分に特異的に結合する第2物質または目的成分と結合した磁性体を磁石により回収し、再度使用してもよい。以下に本発明の具体例を説明する。

【0033】

【実施例】

実施例1

（1）検量線用溶液の調製

和光純薬工業製Chromopure ヒト IgG（whole molecule）を50mMリン酸緩衝液（pH7.0）に溶かし、 $10^{-2} \sim 10^{-5}$ mg/mlのヒトIgG溶液を得、検量線用溶液とした。

【0034】（2）ヒトIgGの定量

顕微鏡用ガラススライドプレートを、5%（ γ -アミノプロピル）トリエトキシシランのPアセトン溶液に漬け、25℃で1時間放置した。風乾後、o-リング（内径5mm）をエポキシ樹脂にて接着し、そこに50mMリン酸緩衝液に5%グルタルアルデヒドを溶かしたもの（pH7）を入れ、3時間放置した。水洗後、プロテインA 1mg/mlを含むpH7の50mMリン酸緩衝液を入れ1時間放置し、プロテインAをガラススライドプレートに固定した。

【0035】得られたプロテインA結合ガラススライドプレートに対し、残存するグルタルアルデヒドをブロックするための100mMグリシン溶液を加えた後水洗した後、pH2.4の100mMグリシン塩酸緩衝液でリンスし水洗した。次に、水を切り、試料としての各種濃度のヒトIgG（ $10^{-2} \sim 10^{-5}$ mg/ml）を含む50mMリン酸緩衝液（pH7）を入れ1時間放置した。次に、50mM塩化ナトリウム溶液を入れ水洗した。磁性体と結合した抗IgG（アドバンス・マグネティック社製Bio Mag Anti-Human IgG）0.1mg/mlを50mMリン酸緩衝液（pH7）を加え、2時間放置した後水洗した。最後に100mMグリシン塩酸緩衝液（pH2.4）を25 μ l入れ、マイクロピペットで水晶発振子（相互薬工業製：未被覆水晶発振子）のプロープに移した。この操作を2回繰り返し、50 μ lの液に対応する発振周波数変化を水晶発振器（相互薬工業製：ニオイセンサーSF-105W）で測定した。得られた検量線を図1に示す。

【0036】実施例2

（1）検量線用溶液の調製

和光純薬工業製Chromopure ヒト IgG（whole molecule）を50mMリン酸緩衝液（pH7.0）に溶かし、 $10^{-2} \sim 10^{-5}$ mg/ml

1 溶液を得、検量線用溶液とした。

【0037】(2) ヒト IgG の定量

水晶発振子（相互工業製未被覆水晶発振子）を 1 N 水酸化ナトリウムに 20 分浸漬し、水洗後 1 N 塩酸に 5 分間浸せきした。次に、濃塩酸 0.1 ml を金電極に均等に塗り、2 分後水洗し、エタノールで洗い、200℃で 20 分間乾燥した。乾燥器から取り出し、水晶振動子プローブに固定し、直ちに、1 mg/ml プロテイン A を含む 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.2) 50 μ l を注入した。次に、5% 塩化ナトリウムを含む 100 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 4.5) 50 μ l を注入し、2 時間放置し、金電極表面にプロテイン A を固定した。

【0038】100 mM リン酸緩衝液 (PBS) で水晶振動子を洗浄後、5% 牛アルブミンを含む 100 mM リン酸塩緩衝液を注入し、20 分放置し、そこに、試料としての検量線用 IgG 溶液 2 μ l を注入し、ゆるやかにかきまぜた後、安定した発振周波数を読みとった。次

に、磁性体と結合した抗 IgG (アドバンスドマグネティック社製 Bio Mag Anti-Human IgG) を 50 mM リン酸緩衝液に 1 mg/ml 溶かしたものを 2 μ l 加え、1 時間放置した。十分水洗後、一端水をマイクロピペットで切り、次に水 50 μ l を加え、共振周波数を読みとった。得られた検量線を図 1 に示す。

【0039】

【発明の効果】 本発明により高い検出感度を持ち、抗原や抗体が再利用できる水晶発振子を用いた免疫測定法が提供される。

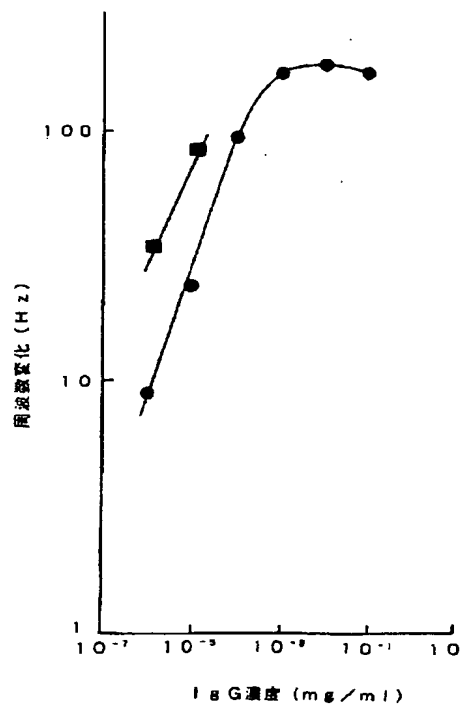
【図面の簡単な説明】

【図 1】 実施例 1 および実施例 2 の測定方法により得られたヒト IgG の検量線。

【符号の説明】

—●— 実施例 1 の検量線。
—■— 実施例 2 の検量線。

【図 1】



【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
【部門区分】第6部門第1区分
【発行日】平成13年11月9日(2001.11.9)

【公開番号】特開平7-225233
【公開日】平成7年8月22日(1995.8.22)
【年通号数】公開特許公報7-2253
【出願番号】特願平6-18722
【国際特許分類第7版】
G01N 33/543 593
【FI】
G01N 33/543 593

【手続補正書】

【提出日】平成13年1月29日(2001.1.29)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料中の目的成分を、固相と結合した目的成分と特異的に結合する物質を用いて定量する免疫測定法において、標識物質として磁性粒子を用い、磁性粒子量を水晶発振子の発振周波数の変化を測定することにより定量することを特徴とする方法。

【請求項2】 免疫測定法が、サンドイッチ法または競合法である請求項1に記載の方法。

【請求項3】 固相が水晶発振子である請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】 固相が水晶発振子以外の固形物であり、固相中に捕捉された磁性体から磁性粒子を遊離させ水晶発振子と共存させることにより変化する水晶発振子の発振周波数を測定する請求項1または2に記載の方法。

【請求項5】 目的成分が抗原であり、目的成分に特異的に結合する物質が該抗原に対する抗体である請求項1～4のいずれかに記載の方法。

【請求項6】 目的成分が抗体であり、目的成分に特異的に結合する物質が該抗体に対する抗原である請求項1～4のいずれかに記載の方法。

【請求項7】 目的成分がIgGであり、目的成分に特異的に結合する物質がプロテインAである請求項1～4のいずれかに記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正内容】

【0010】目的成分とは、抗原または抗体を表す。抗

原または抗体(被検体)としては、がん胎児性抗原(CEA)、免疫グロブリン(IgG、IgA、IgM、IgD、IgE)、補体(C3、C4、C5、C1q)、C反応性蛋白質(CRP)、 α_1 -アンチトリプシン、 α_1 -ミクログロブリン、 β_2 -ミクログロブリン、ハプトグロブリン、トランスフェリン、セルロプラスミン、フェリチン、アルブミン、ヘモグロビンA₁、ヘモグロビンA_{1c}、ミオグロビン、ミオシン、デューパン-2、 α -フェトプロテイン(AFP)、組織ポリペプチド抗原(TPA)、アポリポ蛋白A₁、アポリポ蛋白E、リウマチ因子、抗ストレプトリジンO(ASO)、フィブリン分解産物(FDP)、フィブリン分解産物D分画(FDP-D)、フィブリン分解産物D-D分画(FDP-D Dimer)、フィブリン分解産物E分画(FDP-E)、アンチトロンビン-III(AT-III)等の蛋白質、アミラーゼ、前立腺由来酸性ホスファターゼ(PAP)、神経特異エノラーゼ(NSE)、フィブリノーゲン、エラスターゼ、プラスミノゲン、クレアチンキナーゼ心筋型(CK-MB)等の酵素、インシュリン、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、3,5,3'-トリヨードサイロニン(T₃)、サイロキシニン(T₄)、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、成長ホルモン(GH)、黄体化ホルモン(LH)等のホルモン、B型肝炎ウイルス関連抗体、B型肝炎ウイルス関連抗原、C型肝炎ウイルス抗体、HTLV(成人T細胞白血病ウイルス)抗体、HIV(エイズウイルス)抗体、クラミジア抗体、梅毒の抗体、トキソプラズマ抗体等各種感染症の原因ウイルスに対する抗体等があげられる。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0027

【補正方法】変更

【補正内容】

【0027】本発明の測定法を水性媒体中で行う場合は、水性媒体として水または緩衝液を用いる。水また緩衝液としては、蒸留水、イオン交換水、生理食塩水また

Best Available Copy

はpH4～10で濃度範囲が5～200mM、好ましくは10～100mMの緩衝液があげられる。緩衝液としてはリン酸緩衝液、トリス塩酸緩衝液、グリシン緩衝液、ホウ酸緩衝液、酢酸緩衝液、グッドの緩衝液等があげられる。なお、水または緩衝液は必要により、塩化ナ

トリウム等の塩、牛血清アルブミン等の安定化剤、アジ化ナトリウム等の防腐剤、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート（Tween 20）等の界面活性剤を含有していてもよい。